ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Über das Vorkommen von kohlensaurem Kalk in einer Gruppe von Schwefelbakterien

Von

Egon Bersa

(Mit 1 Tafel und 2 Textfiguren)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institute der Universität Graz

(Vorgelegt in der Sitzung am 22. April 1920)

Gelegentlich der Durchmusterung von Schlammproben aus dem Bassin des botanischen Gartens entdeckte J. Gicklhorn (1920) einige bisher noch nicht bekannte, einzellige, farblose Schwefelbakterien. Besonders reichlich und beständig kamen drei Formen vor: Achromatium oxaliferum Schewiakoff, Microspira vacillans Gicklhorn und Pseudomonas hyalina Gicklhorn.

An diesen, alle anderen Bakterien an Größe überragenden Organismen lag es nahe, der Frage nach dem Vorhandensein eines Kernes bei den Bakterien mit den neuen Untersuchungsmethoden, wie sie von Arthur Mayer (1912) ausgearbeitet wurden, näherzutreten. Doch schon bei den ersten Versuchen die Zelle von ihren Inhaltskörpern zu befreien, sah ich mich veranlaßt, auch die Mikrochemie derselben zu berücksichtigen. Gleichzeitig stellte sich heraus, daß die zunächst als Schwefel angesprochenen Inhaltskörper von Achromatium zum größten Teil gar nicht aus Schwefel bestanden und daß Microspira vacillans und Pseudomonas hyalina sich ebenso verhielten. Die letzteren wurden daher in die

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Untersuchung miteinbezogen. Da ich mich vor allem auf die Untersuchung von Achromatium einschränkte, ergab sich im Verlaufe der Arbeit folgende Gliederung:

1. Morphologie, Cytologie (Systematik). 2. Mikrochemie (Inhaltskörper). 3. Allgemeines, in welchem einige physiologische Fragen erörtert werden sollen.

I. Morphologie, Cytologie.

Unser Organismus ist dreimal beschrieben worden.

Als Achromatium oxaliferum Schewiakoff (1893). Modderula Hartwigi Frenzel (1897). Hillhousia mirabilis West & Griffiths (1909).

Schon Lauterborn (1898), der den Organismus zuerst gefunden hatte, um ihn Schewiakoff zu überlassen, betont ausdrücklich, daß Modderula Frenzel dasselbe ist wie Achromatium Schewiakoff. Fundort, Gestalt, Größenverhältnisse, Fortpflanzungsweise, Bewegungsart sind genau dieselben. West & Griffiths haben 1909 die Arbeit Schewiakoffs wahrscheinlich übersehen. Erst 1913 geben sie eine vergleichende Zusammenstellung der »Unterschiede« zwischen Achromatium und Hillhousia. Diese sind nun folgende:

Achromatium.	Hillhousia.
1. Unterscheidung einer peripheren Alveolarschichte und eines großmaschigen Zentralkörpers.	1. Es ist nur ein gleichmäßig gebautes, großmaschiges, protoplasmatisches Netzwerk vorhanden.
2. Ansehnliche rötliche Chromatinkörner in den Kanten des Netzwerkes des Zentralkörpers.	2. Durch Färbung ist Chromatin nicht bestimmt zu erkennen, wohl aber kleine Körnchen, die möglicherweise aus Chromatin bestehen.
3. Die Inhaltskörper der Vakuolen bestehen aus Calciumoxalat	3. Die Inhaltskörper bestehen aus Calciumkarbonat.
4. Kein Schwefel vorhanden.	4. Stark lichtbrechende, rötliche Schwefeltropfen im Protoplasmanetz.
5. Größe: 29 μ × 15 μ im Mittel.	5. Größe: H. mirabilis: 60 μ × 26 μ H. palustris: 25 μ × 14 μ

Die Unterschiede sind auf den ersten Blick ziemlich bedeutend. Wenn man aber Abbildungen und Beschreibung der beiden Autoren kritisch vergleicht, so merkt man bald, daß sie dasselbe Bild gesehen, aber verschieden gedeutet haben. Richtig haben nur West & Griffiths in ihrer zweiten Arbeit (1913) beobachtet. Die rötlichen Körner, die Schewiakoff als Chromatin gedeutet hat, sind (wenigstens zum Teil) nichts anderes als die Schwefeltröpfchen, die im Protoplasma liegen und sich ohne weiteres herauslösen lassen. Durch die starke Interferenz können sie einen rötlichen Glanz vortäuschen, so daß man, besonders wenn das rot oder violett gefärbte

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Plasma durchscheint, der Meinung sein kann, sie seien intensiv rot gefärbt. Ebenso unrichtig hat er die chemische Zusammensetzung der Inhaltskörper gedeutet.[1] Denselben Fehler begehen nach ihm auch noch Virieux (1913), Massart (1901) und Nadson (1913). Nach West & Griffiths (1913, p. 89) hätten Virieux und Massart Hillhousia vor sich gehabt und nicht Achromatium, weil sie Schwefeltröpfchen fanden und keine Alveolarschichte feststellen konnten. Sie setzen sich aber ohne weiteres darüber hinweg, daß Virieux und Massart kein Calciumkarbonat finden, sondern die Angabe Schewiakoff's bestätigen. Die Alveolarschichte hat Schewiakoff. zweifellos beeinflußt durch die Ideen Bütschli's, zu sehen geglaubt und davon den großmaschigen Protoplasten als Zentralkörper unterschieden.

Von Arten wurden beschrieben:

A. oxaliferum Schewiakoff (1895)	Länge 15—43 μ	Breite 9—22 μ
» » (Massart 1901)	» 30 μ	» 20 μ
M. Hartwigi Frenzel (1897)	» 30—50 μ	» 9—12 μ
H. mirabilis West & Griffiths (1909)	» 42—86 μ	» 20—33 μ
H. palustris West & Griffiths (1913)	» 25 μ	» 14 μ
A. gigas Nadson (1913)	» bis 102 μ	

Ich habe nun im Laufe eines halben Jahres Gelegenheit gehabt, ein reiches Material zu durchmustern, konnte aber nie zwei oder mehrere in einer Form oder Größe konstant abweichende Arten finden. Ich kann nur, wie schon Schewiakoff betont hat, ungemein starke Schwankungen in den Größenverhältnissen feststellen. Die kleinsten Zellen waren fast kugelrund und maßen kaum 9 μ im Durchmesser, während die größte von mir beobachtete 75 μ × 25 μ maß. Im Mittel maßen die Zellen 30—40 μ × 10—18 μ. Solche Maße beziehen sich auf lebende Zellen, die nicht in Teilung begriffen sind. Da solche in der Größe stark schwankende Zellen zur selben Zeit und oft im selben Präparat vorkommen, so können nur auf Grund von Größenunterschieden verschiedene Arten nicht aufgestellt werden, so daß ich das mir vorliegende Achromatium für eine einzige Art betrachte und die bis jetzt beschriebenen Arten zu Achromatium oxaliferum Schewiakoff gehörig halte. Sicherere Unterscheidungs-

[1] Siehe auch die Fußnote p. 245.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

merkmale ließen sich wahrscheinlich nur aus Reinkulturen gewinnen.

Achromatium ist wohl sehr weit verbreitet. Um ein Bild von der Verbreitung zu geben, führe ich einige Fundorte an: Neuhofer Altrhein (Schew., Lauterb.), Rheinpfalz (Lauterb., p. 96), Müggelsee bei Berlin (Frenzel), Juraseen (Virieux), Böhmen, Wien (Molisch), Graz (Gicklhorn), Großbritannien an mehreren Stellen (West & Griffiths 1913), Hapsaler Meerbusen (Nadson), Namaqualand, S.-Afrika (West & Griffiths). Achromatium hält sich an der Oberfläche des Faulschlammes von Sümpfen und Teichen auf; Orte, an denen reichlich organische Substanzen verwesen und H_2S entwickeln. Auffallend ist das Auftreten im Brackwasser des Hapsaler Meerbusens, was darauf hindeuten würde, daß es auch Meerwasser bis zu einem gewissen Grade vertragen kann. Möglicherweise sind auch die »Beggiatoenkeime« Cohn's (1887) und Warming's (1876) zu Achromatium zu zählen, da ja das Vorkommen im Hapsaler Meerbusen ein Auftreten an der Nordküste Deutschlands nicht unwahrscheinlich macht.

Die Zellen sind meist langgestreckt, zylindrisch, mit regelmäßig abgerundeten Enden, seltener kugelig oder oval (vgl. Fig. 1 der Tafel). Meist sind sie von stark lichtbrechenden, 1—10 μ großen, mehr weniger abgerundeten Inhaltskörpern vollständig erfüllt (Fig. 11 der Tafel). Diese Inhaltskörper verhindern den Einblick in den inneren Aufbau der Zelle; man erkennt nur einen hellen Saum mit einer scharfen Kontur, das randständige Protoplasma mit der Membran. Zellen, die aus irgendeinem Grunde weniger Inhaltskörper enthalten, lassen den Bau des Protoplasten besser erkennen. Schon der lebende Organismus zeigt da ein großwabig gebautes Plasma, welches gleichmäßig die ganze Zelle erfüllt und in dessen Strängen und Kanten man kleine, bis etwa 2 μ große, stark lichtbrechende runde Körnchen oder Tröpfchen bemerkt, während die von den Wabenwänden umschlossenen Vakuolen leer sind, oder ein bis mehrere Körnchen von verschiedener Größe und Gestalt einschließen, die so groß sind, daß sie die ganze Vakuole ausfüllen und letztere sich in der Form diesen Inhaltskörpern anpassen muß. Manchmal sind die Körner aber kleiner und zeigen dann oft eine deutlich eckige Gestalt (Fig. 11 der Tafel). Solche Körner können sich, wenn sie nicht zu groß sind, in ausgesprochener Molekularbewegung befinden, ein Beweis dafür, daß sie frei in der Vakuole liegen und ihre eckige Gestalt ihrer festen Beschaffenheit verdanken.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

In selteneren Fällen, unter ungünstigen Lebensbedingungen, trifft man Achromatien ohne Inhaltskörper an, wohl sind aber meist die stark lichtbrechenden Tröpfchen im Protoplasmanetz zu finden. Diese sind mehr an der Peripherie der Zelle gelagert, gegen das Zentrum zu spärlicher werdend. Ganz inhaltsleere Zellen sind wohl abgestorben, was sich oft auch durch eingetretene Veränderungen im Protoplasma, Schrumpfungen etc. verrät. An solchen inhaltsarmen, lebenden Zellen läßt sich der wabige Bau des Protoplasten gut beobachten und zugleich feststellen, daß die in den fixierten Achromatien sichtbaren Strukturen mit denen in den lebenden Zellen durchaus übereinstimmen. Von einer Alveolarschichte im Sinne Bütschli's ist keine Spur zu sehen, trotz der Angaben von Schewiakoff, daß sie nur am lebenden Objekt an sehr günstigen Stellen zu sehen seien.

Auch an vorsichtig fixierten Objekten ist ebenfalls von einer Alveolarschichte, trotz Beobachtung mit starken Immersionen, nicht das mindeste wahrzunehmen. Allerdings muß man beim Fixieren vorsichtig vorgehen. Denn jene Fixierungsflüssigkeiten, welche starke Säuren enthalten, können bei plötzlichem Zusatze die Zelle stark beschädigen. Besonders das zarte Wabengerüst leidet darunter. Wenn nämlich die Inhaltskörper zu rasch herausgelöst werden, so bewirkt der Lösungsvorgang starke Diffusionsströme, teilweise auch Gasentwicklung, was die Wabenwände zerreißt, das ursprüngliche Bild des Protoplasmanetzes stört und zu Täuschungen Anlaß geben kann. Auf solche Vorgänge haben schon Schewiakoff und West & Griffiths aufmerksam gemacht. Durch das Zerreißen der peripheren Waben und nachheriges Kollabieren der zentralen Wabenwände kann eine dichtere Protoplasmamasse im Zentrum vorgetäuscht werden, die, wenn sie auch nicht als Kern angesehen wird, immerhin einem Zentralkörper ähnlich sehen kann. Besonders wahrnehmbar sind diese Zerreißungen, wenn man seitlich am Präparat etwas Säure zusetzt. Durch Diffusion dringt diese bald ein, die Inhaltskörper beginnen sich zu lösen und gleiten durch die zerrissenen Waben hin und her. Am besten fixiert man daher mit Flüssigkeiten, die die Inhaltskörper nur sehr langsam angreifen, während das Protoplasma gehärtet wird. So: 1% Osmiumsäure, Formol (40% und schwächer), wässerige Pikrinsäure. West & Griffiths empfehlen auch 3 Teile Alkohol und 1 Teil Essigsäure.

Die Zellwand ist innen von einer dünnen, gleichmäßig starken Protoplasmaschichte ausgekleidet. Eine Struktur in der Rindenschichte, wie sie Schewiakoff beschreibt, konnte ich nicht entdecken. Er sagt zwar: (p. 53) »Ich muß zugeben, daß die beschriebene Struktur der Rindenschicht nicht an allen, sondern nur an einigen

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

wenigen lebenden Achromatien zu sehen war und erst an fixierten Exemplaren mit Deutlichkeit hervortrat.... Im lebenden Zustande muß nämlich eine ganz minimale Differenz im Lichtbrechungsvermögen der Wabenwände und des Wabeninhaltes der Rindenschichte bestehen, weshalb auch von den Strukturverhältnissen derselben so gut wie nichts wahrzunehmen ist und die Rindenschicht meist homogen erscheint. Wird aber bei der Fixierung dieses annähernd vorhandene Gleichgewicht im optischen Verhalten aufgehoben, so kommen die feineren Strukturverhältnisse zum Vorschein. Sie werden demnach nicht künstlich etwa durch Plasmolyse erzeugt, wie es Fischer meint, sondern bloß wahrnehmbar oder deutlich gemacht.» Aber auch alle späteren Untersucher haben davon nichts wahrgenommen. Selbst Virieux und West, die das Achromatium ziemlich genau cytologisch, besonders färbetechnisch untersucht haben, fanden nichts dergleichen, so daß es sich bei Schewiakoff entweder um postmortal entstandene Strukturen handelt, oder um ein Vorurteil bei der Beobachtung. Bei vorsichtigem Töten, beim Durchsaugen von Farbstofflösungen oder Konservierungsflüssigkeiten unter dem Deckglase treten fast regelmäßig bei den meisten Zellen Schrumpfungen ein, die man durch Übertragen in Wasser wieder rückgängig machen kann. Daß dabei die Struktur des Protoplasten mehr oder weniger leidet, ist klar.

Außerdem ist bei keiner echten Bakterie bis jetzt eine Alveolarschichte nachgewiesen worden (Meyer A., 1912, p. 35f. und 78f.). Von den Bakterien sind bis jetzt die wenigsten genau daraufhin untersucht, auch ist die systematische Stellung unseres Organismus vorläufig noch zweifelhaft.

An das wandständige Plasma setzt sich sofort das grobvakuolige zentrale Plasma an (Fig. 5 der Tafel). Diese Waben sind überall ziemlich gleichmäßig gebaut, nehmen aber gegen die Mitte zu etwas an Größe ab und können bei einzelnen Exemplaren im Zentrum etwas dichter gelagert sein, so den Eindruck eines Zentralkörpers hervorrufend (Fig. 7 der Tafel). Ein Kern ist nicht vorhanden. Bei Färbungen mit den gewöhnlichen Kernfarbstoffen ist, mit Ausnahme einer leichten Färbung des feinkörnigen Protoplasten, nicht viel zu erkennen. In den Maschen, hauptsächlich in den Kanten und Ecken findet man hie und da zerstreut etwas stärker färbbare Körnchen von sehr verschiedener Grösse, meist sehr klein und undeutlich. Sie sind auch mit Formol-Fuchsin nach A. Meyer (1912, p. 73) sichtbar zu machen und treten anscheinend in jeder Zelle ziemlich beständig auf, wie auch Virieux sowie auch West & Griffiths (1913) konstatieren konnten.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Letztere haben auch einige mikrochemische Reaktionen versucht, um sich zu überzeugen, ob diese Körnchen aus Nukleoproteiden bestehen. Nach ihnen (1909, p. 402) werden diese Körnchen von konzentriertem Na_2CO_3, zehnprozentiger NaCl-Lösung, sowie fünfprozentiger KOH zum größten Teil herausgelöst, während angesäuertes Pepsin-Glyzerin die Körnchen nicht angreift und nur das protoplasmatische Netzwerk zerstört. Aus diesen Reaktionen schließen sie »that a considerable proportion of the granules present in the general protoplasmic network consist of nucleo-proteids« (1909, p. 403). Einen weiteren Beweis für das Vorhandensein von Nukleo-proteiden wollen die Verfasser durch den Nachweis von Phosphor in der Asche der Zelle bringen.

Aus dem vorstehenden können wir entnehmen, daß das Vorhandensein einer echten chromatischen Substanz sehr zweifelhaft ist. Die aufgefundenen färbbaren Körnchen bestehen zwar anscheinend aus Nukleo-proteiden, nehmen auch teilweise Kernfarbstoffe an, zeigen aber doch nicht den ausgesprochenen Charakter des Chromatins der echten Zellkerne. Es handelt sich auch wahrscheinlich nicht um A. Mayer'sche Bakterienkerne, denn diese haben doch eine bestimmte konstante Größe und charakteristische Farbenreaktion. Weitere Untersuchungen werden noch Aufschluß bringen können, besonders wenn man die nächstverwandten Bakterien mitberücksichtigt.

Der Protoplast ist von einer im lebenden Zustande nicht immer deutlich sichtbaren Membran umgeben. Sie ist farblos, glatt, strukturlos, und an fixierten Objekten deutlich doppelt konturiert. Sie läßt sich durch Zerdrücken der Zellen leicht isolieren und so bequem untersuchen. Sie scheint ziemlich derb zu sein, nimmt Anilinfarbstoffe leicht auf, färbt sich intensiv, bevor der Farbstoff noch in die Zelle gedrungen ist. Eine punkt- oder netzförmige Struktur, wie sie Schewiakoff (p. 50 und Fig. 11) beschreibt, ist nicht zu sehen. Gegen chemische Agentien ist sie ziemlich widerstandsfähig, wird von fast allen Substanzen, die ich bei den später beschriebenen mikrochemischen Reaktionen anwendete, nicht angegriffen und ist gegen viele (z. B. Glycerin) sehr schwer durchlässig.

Schon West & Griffiths und Schewiakoff haben fest gestellt, daß die Membran nicht aus Zellulose besteht. Alle diesbezüglichen Reaktionen versagen. Mit Jod färbt sie sich leicht gelb bis bräunlich und bleibt auch in Kupferoxydammoniak, selbst bei längerer Einwirkung, unver-

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

ändert. Dasselbe ist auch in schwacher Kalilauge der Fall. In konzentrierter Kalilauge löst sich die Membran langsam. Viel rascher in konzentrierter H_2SO_4, die überhaupt die ganze Zelle rasch zerstört. Langsam aber sicher wird die ganze Zelle auch von starker Chromsäure angegriffen und ganz aufgelöst. Bevor sich die Membran löst, quillt sie in H_2SO_4 rasch auf und hebt sich auch öfters von den gleichzeitig schrumpfenden Protoplasten ab. Lamellöse Struktur (West & Griffiths 1909, p. 401f., Fig. 13, 14) ist nicht vorhanden. Was die Autoren dafür halten, ist ihnen durch die gequollene Schleimhülle (siehe weiter unten) vorgetäuscht worden. Die Membran durch Plasmolyse von den Protoplasten abheben zu wollen, gelingt auf keine Weise, wenigstens an der lebenden Zelle nicht. Auch an der toten Zelle ist dies nicht sehr leicht. Trotz ihrer großen Widerstandsfähigkeit ist die Membran sehr weich und nachgiebig und scheint mit dem Protoplasten innig verbunden zu sein. Daher kommt es, daß bei Anwendung von wasserentziehenden Mitteln die ganze Zelle schrumpft, durch zahlreiche Einbuchtungen die Form ganz verliert. Nur bei Anwendung von Mitteln, die auch kräftig zerstörend wirken, gelingt es den Protoplasten von der Membran abzuheben. So mit konzentrierter H_2SO_4, oder mit konzentrierter wässeriger Karbolsäurelösung. Bevor die Membran und die Schleimhülle stark quellen, schrumpft der Protoplast oft zu einem formlosen Klumpen zusammen, sich dabei mehr oder weniger vollständig von der Membran abhebend. So kann man sich überzeugen, daß in vielen Fällen die äußerste Plasmaschichte an der Zellwand hängen bleibt und sich nur der innere Plasmateil durch Reißen der äußeren Plasmalamellen kontrahiert. Oft sieht man noch (besonders mit Karbolsäure), wie dünne Plasmafäden eine Verbindung zwischen dem zentralen und dem wandständigen Plasma herstellen.

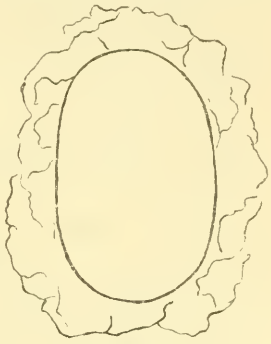
Aus all dem kann man wohl mit einiger Wahrscheinlichkeit schließen, daß die Membran kein selbständiges Organ darstellt, sondern nur »eine äußerste, fester gewordene, aber auch chemisch veränderte Plasmaschichte« wie sie Bütschli (1890) bei Chromatium Okenii nachgewiesen hat. Auch ihre chemische Beschaffenheit scheint sich mehr derjenigen mancher Pilze und Bakterien zu nähern.

Als äußerste Umhüllung finden wir bei Achromatium eine Schleimschichte, die an der lebenden Zelle nicht ohne weiteres nachzuweisen ist; ihre Lichtbrechung ist so schwach und ihre Struktur so wenig ausgeprägt, daß sie im Wasser vollständig verschwindet. Doch schon die Leichtigkeit, mit der die Organismen an Detritusbrocken hängen bleiben, sowie die oft zahlreichen, an ihrer Oberfläche haftenden Bakterien lassen vermuten, daß die Oberfläche der Zelle zumindest sehr klebrig sein muß. In Tusche eingelegte

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

lebende Achromatien zeigen die Schleimhülle sehr deutlich. Sie hebt sich als scharf begrenzter, heller Hof deutlich ab, der eine durchschnittliche Breite von 2 bis 3 μ erreicht. Seltener trifft man auch Zellen an, deren Schleimhof kaum sichtbar ist. Im lebenden Zustande anscheinend hyalin, erkennt man erst bei Behandlung mit gewissen Reagenzien die wahre Struktur. Mit H_2SO_4 oder wässeriger Karbolsäurelösung läßt sich die lamellöse Struktur andeutungsweise sichtbar machen (Textfig. 1). Die Schleimschichte quillt stark auf, erreicht oft in ihrer Breite ein Drittel des Zellendurchmessers und zeigt sich mehr oder weniger geschichtet.[1]

Man findet regelmäßig bei fixierten Achromatien auch solche, deren Schleimhülle zerrissen und von der Zelle abgelöst ist, was auf losen Zusammenhang hindeutet und daß der Schleim von der Zelle durch die Membran hindurch ausgeschieden wird. Läßt man die lebende Zelle in Tusche längere Zeit liegen, so kann man nach einiger Zeit bemerken, wie an einzelnen Zellen (durchaus nicht an allen) der Schleim ziemlich rasch aufquillt, meist bis zu doppelter und dreifacher Stärke, dadurch weniger dicht und daher auch weniger klar und durchsichtig wird, mit ziemlich unregelmäßig wolkigen Umrissen (Fig. 4 der Tafel). Unter diesem Schleim kann nach einiger Zeit (zirka 15 Minuten) an der lebenden Zelle eine neue, scharf und klar begrenzte Schleimschichte erscheinen, die zuerst sehr schmal, allmählich an Breite zunimmt, bis sie



Textfig. 1.

Mit 5% Karbolsäurelösung behandelte Zelle. Schleimhülle gequollen. Vergr. zirka 800.

[1]) Diese gequollenen Schichten haben West & Griffiths fälschlich der Membran zugesprochen, da sie den Schleimhof übersahen oder falsch deuteten. Sie sprachen der Membran nur eine klebrige Außenseite zu, hervorgerufen durch kleine Mengen ausgeschiedenen Schleimes (small amount of mucus, 1913, p. 83). Nur Schewiakoff hat die Schleimschichte gesehen und als solche erkannt, ihr konstantes Vorkommen aber wohl übersehen und daher weiter nicht beachtet.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

eine Dicke von 1 bis 2 μ erreicht hat, ein Vorgang, der sehr charakteristisch und nicht zu übersehen ist.[1]

Beobachtet man die lebenden Achromatien im Dunkelfelde, so ist die Schleimschichte nur als heller Schein undeutlich wahrzunehmen. Diese Erscheinung ähnelt sehr dem an peritrich gegeißelten Bakterien sichtbaren »Heiligenschein«.

Nur dadurch läßt sich der Irrtum von West & Griffiths erklären, die einen begeißelten Organismus vor sich zu haben glaubten. Unerklärlich ist mir auch ihre Angabe, daß bei Fixierung mit 5% Karbolsäure sowie mit 40% Formalin die durch das Absterben in Ruhe kommenden Zilien leicht zu sehen seien. Ich lasse die betreffende Stelle hier teilweise folgen (1909, p. 399): »The organism is a peritrichous bacterium with several hundred short cilia disposed all over the exterior or the cell-wall. The cilia can be seen immediately on fixation either with a 5-per-cent. carbolic acid solution or with a 40-per-cent. formalin solution. The action of these reagents results in a cessation of the movements of the cilia in from 10 to 20 seconds, during which period many of them are thrown aff an become disintegrated . . .

Die Bewegung ist bis jetzt noch ganz rätselhaft, ähnlich wie bei Oszillarien und Diatomeen sehr langsam, schwankend, oft mehr gleitend oder rollend, unsicher und ruckartig. Seltener beobachtet man auch eine drehende Bewegung um die Längsachse. Daß die Bewegung durchaus aktiv ist und nicht durch Wasserströmungen im Präparat hervorgerufen wird, beweist schon der Umstand, daß zufällig dicht beieinander liegende, oder absichtlich zusammengebrachte Achromatien gleichzeitig Bewegungen nach verschiedenen Richtungen ausführen und sich nach einiger Zeit vollständig zerstreut haben. Durch kein Mittel ist es möglich, irgendwelche Bewegungsorgane sichtbar zu machen. (Siehe auch Schewiakoff 1893, p. 47.) Doch liegt es nahe, an eine Schleimabsonderung ähnlich der der Oszillarien zu denken.

Die Fortpflanzung geschieht durch einfache Zweiteilung, doch nicht so, wie bei echten Bakterien. Bei den Bakterien wie bei den Eumyzeten

[1] Über die Ursachen dieser Quellungserscheinung und Neubildung der Schleimschichte möchte ich nur eine Vermutung vorbringen. Es kann möglicherweise eine ähnliche Erscheinung sein, wie sie bei mechanischer oder chemischer Reizung von mit Schleimhüllen ausgestatteten Flagellaten eintritt, d. h., daß die Tuscheteilchen durch ihren Kontakt einen Reiz auf die Zelle ausüben.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

»findet die Bildung der Querwand der Zellfäden succedan. die erste Anlage der Zellwand in Ringform statt« (A. Meyer 1912, p. 96), wie es nach Bütschli's Untersuchungen (1890, p. 14)[1] bei Chromatium Okenii der Fall ist. Eine solche Ringbildung tritt nun bei Achromatium nicht auf. Die sich zur Teilung anschickenden Zellen sind durchschnittlich größer, langgestreckt. Die Mitte der Zelle beginnt sich allmählich einzuschnüren; die Zelle nimmt dabei eine biskuitförmige Gestalt an (Fig. 1, 2 und 3 der Tafel). Die beiden Hälften rücken immer mehr voneinander ab, die Einschnürung wird immer tiefer, bis die letzte Verbindung reißt und die neugebildeten Tochterzellen auseinanderfallen. Beobachtet man solche Stadien in Tusche, so bemerkt man auch, wie die Schleimhülle der Zellmembran der Einschnürung folgt, ohne irgendwelche Schleimkapsel zu bilden, wie sie für viele Cyanophyceen und Bakterien charakteristisch ist. Die Bewegung wird dabei nicht eingestellt. An solchen in der Teilung schon sehr vorgeschrittenen Achromatien kann man auch ähnliche Bildungen beobachten, wie sie von A. Meyer (1912, p. 96) als »Plasmodesmen« bei Bakterien bezeichnet wurden. Zwischen den beiden Hälften besteht noch längere Zeit eine protoplasmatische Verbindung als feiner Faden (Fig. 3 und 4 der Tafel).

Die Vermehrung geht äußerst langsam vor sich; selbst bei stunden- oder tagelanger Beobachtung schon ziemlich vorgeschrittener Teilungszustände sind wahrnehmbare Veränderungen nicht zu bemerken. Dies dürfte auch der Grund sein, warum bis jetzt Kulturversuche fehlgeschlagen haben.

II. Inhaltskörper.

Achromatium oxaliferum ist in lebendem Zustande mehr oder weniger von Inhaltskörpern erfüllt, die hauptsächlich in den Vakuolen und im Plasma, welches die Wände der Vakuolen bildet, zerstreut sind. Dasselbe gilt auch für Microspira vacillans und Pseudomonas hyalina. Während Achromatium und Microspira ohne Inhaltskörper farblos, hyalin, mit den charakteristischen großen Vakuolen und der scharf konturierten Membran nur bei aufmerksamer Durchmusterung des Gesichtsfeldes zu finden sind, ist Pseudomonas überhaupt nicht sicher von anderen runden farb- und inhaltslosen Bakterien zu unterscheiden (Fig. 6 und 12 der Tafel). Die Inhaltskörper sind stark glänzend und infolge ihrer starken Lichtbrechung fast undurchsichtig. Achromatium erscheint in durchfallendem Licht fast

[1] Zitiert nach Schewiakoff.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

schwarz. Besonders bei starker Vergrößerung und bei gewisser Beleuchtung schimmern die unteren Inhaltskörper mit einer etwas graugrünlichen Farbe durch und erwecken den Eindruck, als wäre der Organismus schwach gefärbt.[1] An zerdrückten Zellen erkennt man, daß weder das Plasma, noch die Inhaltskörper eine Eigenfärbung besitzen. Microspira sowie Pseudomonas sind ebenfalls farblos und wegen ihrer geringen Größe bedeutend durchsichtiger.

Bei Achromatium und Microspira finden wir in der Zelle die Inhaltskörper in allen Größen vertreten von ungefähr 10 μ Durchmesser bis zu sehr kleinen herab, die nur bei starken Vergrößerungen zu sehen sind; während die großen gleichmäßig in den Vakuolen verteilt sind, liegen die kleinen runden Tröpfchen im Plasma mehr an der Peripherie der Zelle oder den Raum zwischen den großen Körnern einnehmend. Bei Pseudomonas finden wir nur ein bis drei Körnchen; in den weitaus meisten Fällen sind aber nur zwei Körnchen vorhanden.

Die auffallende Ähnlichkeit der Inhaltskörper mit den Schwefeltropfen der Beggiatoen hat ihre Einreihung in die Gruppe der Schwefelbakterien veranlaßt. Besonders bei Achromatium wurde die Schwefelnatur der Inhaltskörper ohne weiteres angenommen (Molisch, 1912, p. 56), obwohl die Angaben der verschiedenen Untersucher recht widersprechend lauten.

Bei der Nachprüfung stimmten zu meiner Überraschung die chemischen Verhältnisse der Einschlüsse von Achromatium mit denen von Microspira vacillans und Pseudomonas hyalina überein, so daß ich die zwei letzteren Formen in diesen Kapiteln auch mitberücksichtige.[2]

1. Schwefel.

Die letzte Arbeit, die sich speziell mit der Mikrochemie der Einschlüsse der Beggiatoen beschäftigt, ist die von Corsini (1905). Nach seinen Untersuchungen, die ich durchaus bestätigen kann, zeigen die Schwefeleinschlüsse folgende Eigenschaften: Leichte Löslichkeit in Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Xylol und Benzin, selbstverständlich nach Antrocknen der Fäden am Objektträger. Absoluter Alkohol löst den Schwefel nur langsam. Ebenso löst Kalilauge in der Wärme. Mit kochender H_2SO_4 fließen die Schwefeleinschlüsse der Beggiatoen zu öligen gelben Tropfen zusammen. Unlöslich sind sie in H_2SO_4, HCl und HNO_3.

---

[1] Siehe auch Schewiakoff l. c. p. 59 sowie West & Griffiths 1909, p. 399.

[2] Obwohl Pseudomonas bipunctata Gicklhorn nicht untersucht werden konnte, so verhält sie sich bezüglich der Inhaltskörper sicherlich wie Pseudomonas hyalina.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Am auffallendsten ist die leichte Löslichkeit in starker Essigsäure. Wenn man die Fäden mit konzentrierter Essigsäure behandelt, so lösen sich die Einschlüsse rasch und bilden auf und neben den Fäden kleine, doppelbrechende, rhombische Kryställchen, die sich unzweideutig als Schwefel identifizieren lassen. Ebenso, wenn auch lange nicht so schön und so schnell, tritt die Umwandlung bei Behandlung mit destilliertem Wasser oder Alkohol ein. Aus mit HCl zersetzten Polysulfureten erhielt Corsini ebensolche Kügelchen, wie sie in den Beggiatoen auftreten und die alle oben angedeuteten Reaktionen gaben. Die Behandlung von Polysulfureten mit Essigsäure ergab sofort sehr schöne und zahlreiche Kryställchen.

Molisch (1913) hat später gezeigt, daß durch Behandeln der Fäden mit konzentrierter wässeriger Pikrinsäurelösung durch eine Minute und nachherigem Auswaschen in Wasser die Umwandlung der Tropfen in Schwefelkrystalle schon nach 24 Stunden vor sich geht. Ebenso erhält man schöne Krystalle durch Einlegen in Glyzerin. Daß aber bei längerem Einwirken der Pikrinsäure die Schwefeltropfen auch herausgelöst werden, scheint er nicht beobachtet zu haben. Ich möchte noch hinzufügen, daß auch Aceton in starker Konzentration sowie Nelken- und Zedernöl den Schwefel rasch lösen.

Behandelt man nun Achromatium[1] mit verdünnten Mineralsäuren, z. B. HCl, so tritt eine unerwartete Erscheinung ein. Sowie die Säure langsam in das Präparat vordringt, beginnen von der Peripherie her die großen Inhaltskörper sich zu verkleinern, nehmen an Umfang immer mehr ab und verschwinden schließlich vollständig. Übrig bleiben nur eine Anzahl kleiner, etwa 2 μ an Größe nicht übersteigende, stark lichtbrechende Kügelchen. Diese sind durch keine Konzentrationsveränderung der Säure zum Verschwinden zu bringen. Im ersten Augenblick glaubt man in diesen Tröpfchen Überreste der verschwundenen großen Inhaltskörper vor sich zu haben. Durch sorgfältige Beobachtung überzeugt man sich aber, daß diese kleinen Tröpfchen auch an den lebenden Zellen zu sehen sind; daß sie meist an der Peripherie der Zelle liegen, oder die Zwischenräume, welche die großen Inhaltskörper freilassen, einnehmen. Wenn man die großen Inhaltskörper mit HCl vorsichtig herauslöst, so bleibt die Form der Zelle ziemlich unverändert erhalten und läßt

[1] Wenn von nun an nicht ausdrücklich andere Angaben gemacht werden, gilt für Microspira vacillans und Pseudomonas hyalina genau dasselbe.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

erkennen, daß die kleinen Tröpfchen im Plasma liegen, welches die einzelnen Stränge und Waben bildet. Bei Pseudomonas liegt die Sache insofern etwas anders, als hier durch die Säure der oder die Inhaltskörper vollständig verschwinden, ohne irgendwelche unlösliche Kügelchen zurückzulassen (Fig. 6 und 12 der Tafel).

Diese stark lichtbrechenden Tröpfchen gleichen vollständig den Schwefeltropfen der Beggiatoen und bei sorgfältiger mikrochemischer Prüfung ergibt sich, daß sie alle jene für die Schwefeleinschlüsse oben angeführten charakteristischen Reaktionen geben. Beim Erhitzen einer größeren Anzahl von Achromatien über der Flamme verschwinden die Tröpfchen und geben einen deutlichen Geruch nach verbranntem Schwefel. Daß Achromatium und Microspira Schwefel enthalten, ist wohl ganz ohne Zweifel, um so mehr, als das Auftreten und Verschwinden dieser Tröpfchen an das Vorhandensein von H_2S gebunden ist. Pseudomonas bildet eine Ausnahme, da es mir nicht gelungen ist, solche zu finden, die auch Schwefel im Innern führen.

2. Calciumkarbonat.

Die »großen Inhaltskörper« der Vakuolen zeigen eine so starke Lichtbrechung, daß man sie auf den ersten Blick nicht von großen Schwefeltropfen unterscheidet.[1] Sie sind aber niemals so vollständig rund wie diese, oft gegenseitig abgeflacht und mit weniger glatter Oberfläche, vielfach von eckiger Gestalt. (Fig. 11 *a* der Tafel.) Schon daraus läßt sich leicht der Schluß ziehen, daß diese Körper eine ziemlich feste Konsistenz besitzen müssen. Zerdrückt man einige isolierte Achromatien im Wasser, so tritt der protoplasmatische Inhalt mitsamt den Körnern heraus und gibt die meisten davon frei. Drückt man weiter auf das Deckglas, so kann man feststellen, daß die Inhaltskörper an ihrer Oberfläche zuerst Risse bekommen und dann schließlich ganz zerquetscht werden können, ohne Tröpfchengestalt wieder anzunehmen. Im polari-

[1] Schewiakoff gibt p. 59 an, daß das Lichtbrechungsvermögen zwischen Alkohol absolut. (1·367) und Schwefelkohlenstoff (1·626) liegt.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

siertem Lichte leuchten sie nicht auf, sind also einfach brechend. (Schewiakoff, 1893, p. 60; West & Griffiths, 1913, p. 79).

Die einzelnen Körper liegen nicht ganz frei in den Waben, sondern sind von einem äußerst dünnen und zarten Häutchen umhüllt. Wenn man nämlich die isolierten Inhaltskörper vorsichtig mit sehr verdünnter HCl behandelt, so verschwindet das Korn vollständig und zurück bleibt ein hauchdünnes Häutchen von der Größe und Gestalt des verschwundenen Kornes. Es nimmt Anilinfarbstoffe an, färbt sich mit Jodalkohol gelbbräunlich, gibt aber nicht die Zellulosereaktion (Schewiakoff, l. c., p. 60).

Das im nachstehenden beschriebene chemische Verhalten wurde zur Kontrolle nicht bloß an ganzen Zellen, sondern womöglich auch an durch Zerquetschen isolierten Inhaltskörpern, sofern sie sich nicht durch ihre Kleinheit dieser Isolierung entzogen (Pseudomonas hyalina), geprüft.

Bringt man zu den Organismen irgendeine Mineralsäure (HCl etc.), so werden die Körner rasch gelöst. Dasselbe geschieht auch in organischen Säuren, wie Essig-, Apfel-, Bernstein-, Zitronen-, Ameisen- und Oxalsäure. Es genügen schon sehr geringe Konzentrationen ($0{\cdot}1\,\%$), um diese Wirkung hervorzubringen. Chromsäure, so stark verdünnt, daß sie im Präparat farblos erscheint, löst schon sehr rasch. Werden die Säuren in stärkerer Konzentration zugesetzt und zwar so rasch, daß sie nicht langsam zur Zelle hindiffundieren können, was durch vorsichtigen Wasserentzug an der entgegengesetzten Seite des Deckglases möglich ist, so lösen sich die Inhaltskörper fast momentan unter stürmischer Blasenbildung. Dabei wird die Zelle oft vollständig zerrissen. Die Gasblasen sind vollständig farblos und entsprechend der geringen Menge der Inhaltskörper auch nicht sehr groß. Langsam, aber doch deutlich sichtbar, lösen sich diese Gasblasen auf, werden immer kleiner und verschwinden schließlich vollständig. Bei schwächerer Konzentration oder bei langsamem Zufließen ist die Gasentwicklung viel spärlicher: ja sie kann ganz ausbleiben, wenn die Verdünnung sehr stark ist. Man sieht dann oft nur einige spärliche Bläschen auftreten, die gleich wieder verschwinden.[1]

Bringt man Aehromatium kurze Zeit in Fixierungsflüssigkeiten, die keine Säuren enthalten, z. B. Alkohol absolut. oder verdünnt), Sublimat,

[1] Das Verschwinden oder Nichtauftreten der Blasen beruht auf der leichten Löslichkeit des Gases (hier Kohlensäure) im Wasser. Auf diese Erscheinung, die Schewiakoff und andere zur falschen Auffassung der Inhaltskörper geführt hat, hat schon Melnikoff (1877) hingewiesen.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Osmiumsäuredämpfe, oder tötet die Zellen durch Erhitzen, so bleiben sie zuerst unverändert, zeigen aber dann, in reines Wasser gebracht, daß sich die Inhaltskörper in zirka 1 Stunde auflösen. Rascher geht die Lösung vor sich, wenn man Wasser durch das Präparat saugt. Ebenso läßt sich die Auflösung an in Wasser zerdrückten Exemplaren beobachten. Ziemlich rasch lösen sich die Inhaltskörper auch in Jodalkohol, Kaliumpermanganat, Chloralhydrat, wässerigerKarbolsäure, Calciumacetat, Millon'schem Reagens, $CuSO_4$, Aceton; langsam in verdünnter KOH, verdünntem NH_3, Eisenchlorid, $K_2Cr_2O_7$, H_2SO_4, $CaCl_2$, Kalciumacetat, verdünnte Na_2CO_3.

Unlöslich sind sie im Alkohol absolut und bleiben darin auch dauernd unverändert (siehe auch Schewiakoff, p. 62). In verdünntem Alkohol sind die Inhaltskörper nur sehr langsam löslich. Ganz unlöslich sind sie auch in Anilin, Äther, Glyzerin, Chloroform, Bergamotte-, Nelken-, Oliven- und Zedernöl, sowie Schwefelkohlenstoff. Bringt man sie aber ins Wasser zurück, so lösen sie sich vollständig auf. Wir haben es also mit einem Stoff zu tun, der im Gegensatze zum Schwefel in den wichtigsten organischen Lösungsmitteln unlöslich ist, wohl aber von manchen Salzen und verdünnten Alkalien angegriffen wird, sowie rasch unter Aufbrausen von Säuren gelöst wird.

Ich versuchte nun systematisch einzelne Jonenreaktionen sowie einzelne charakteristische Reaktionen auf organische Substanzen. Dazu wurde meist eine entsprechende Menge von Zellen isoliert, in destilliertem Wasser gewaschen und in das betreffende Reagens eingelegt. Die Reaktionen auf organische Stoffe (wie z. B. Fett, Zucker, Eiweiß etc.) verliefen durchaus negativ. Die Reagentien wurden möglichst frisch bereitet angewendet und durch Parallelversuche auf ihre Zuverlässigkeit geprüft.

K, Na und Mg waren nicht nachzuweisen; ebensowenig gelang es auch nur Spuren von Fe zu finden, was bei dem Vorhandensein einer Schleimschichte und dem starken Eisengehalt des Wassers, der durch zahlreiche Eisenorganismen (Trachelomonas, Anthophysa, Eisenbakterien) angezeigt wurde, wohl zu erwarten gewesen wäre. Zum Calciumnachweis wurden die zwei neuen, von Molisch (1916) beschriebenen sehr empfindlichen Reaktionen angewendet, wobei sich mit Na_2CO_3 oder $KOH + K_2CO_3$ charakteristisch geformte Doppelsalze bilden. Die Zellen wurden in die Lösung eingelegt. Nach einiger Zeit schossen besonders an den

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

zerdrückten Zellen unter gleichzeitigem Verschwinden der Inhaltskörper große, gut geformte Krystalle an, die alle die von Molisch beschriebenen Eigenschaften aufwiesen (Fig. 13 der Tafel). Daß die Krystallbildung durch die Inhaltskörper veranlaßt wird, beweist schon der Umstand, daß sonst im ganzen Präparate kein einziger Krystall zu finden ist, sowie daß an Zellen ohne Inhaltskörper die Reaktion ausbleibt. Die Reaktion gelingt, beliebig oft wiederholt, immer gut, vorausgesetzt, daß die Zellen Inhaltskörper enthalten. Auch die Menge der angeschossenen Krystalle deutet darauf hin, daß sie nur von den reichlich vorhandenen Inhaltskörpern herstammen können. Mit Pseudomonas wurden diese Versuche wegen der Kleinheit der Zellen nicht durchgeführt.

Molisch (1916, Nr. 5) beschreibt und bildet auch einen hübschen Versuch ab, der darin besteht, daß bei Zufügung von Oxalsäurelösung zu den gebildeten Doppelsalzkrystallen diese sich lösen, während sich gleichzeitig um diese herum kleine Beutel aus oxalsaurem Kalk bilden. Fügt man zu den in Wasser liegenden Zellen Oxalsäure hinzu, so werden die Inhaltskörper ohne aufzubrausen, langsam gelöst, während sich die Zelle auch in unserem Falle mit einem körnigen Niederschlag bedeckt. An irgendeiner Stelle brechen diese Beutel auf und vergrößern sich zusehends, bis der osmotische Gleichgewichtszustand erreicht ist. Den Vorgang kann man sehr schön und deutlich an allen drei Arten beobachten (Fig. 9 der Tafel). Fehlen an sonst noch lebenden Exemplaren die großen Inhaltskörper, so bleibt die Erscheinung aus.

Obwohl die Molisch'schen Kalkreaktionen so scharf und empfindlich sind, daß sie als genügende Beweise für das Vorhandensein des Kalkes gelten können, so will ich doch mehrere Versuche beschreiben, die die sich aufdrängenden Zweifel entkräften sollen. Unter anderem wollte ich versuchen, ob der gewöhnliche Kalknachweis mit H_2SO_4 sich hier auch anwenden ließe. Die Reaktion ist ja bedeutend weniger empfindlich, da der gebildete Gips in Wasser sowie in H_2SO_4 schon merklich löslich ist.

Läßt man mehrere gut gewaschene Zellen auf dem Objektträger antrocknen, so schrumpfen sie leicht, soweit es die Inhaltskörper erlauben, behalten aber im übrigen ihre Form. Bringt man nun neben den Zellen einen möglichst kleinen Tropfen (1 bis 2 *mm* im Durchmesser) H_2SO_4 auf den Objektträger, so kann man unter dem Mikroskop das langsame Ausbreiten des Tropfens beobachten, bis der Augenblick eintritt, wo er die Zellen benetzt. In diesem Augenblick brausen diese lebhaft auf und die Inhaltskörper verschwinden. Sogleich, oder nach kurzer Zeit, schießen an derselben Stelle oder daneben einige wenige aber charakteristische Nädelchen von Gips an, die sich im Überschuß der H_2SO_4 wieder lösen können.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Eine größere Anzahl Achromatien (zirka 100) wurde isoliert und durch mehrmaliges Übertragen in destilliertem Wasser gewaschen; nach dem Antrocknen setzte ich eine Spur stark verdünnte Essigsäure (0·1%) zu, legte sodann einen kleinen, einseitig durch einen Glasfaden unterlegten Deckglassplitter so auf, daß ein keilförmiger Raum zwischen diesem und dem Objektträger entstand und ließ das Ganze, vor Staub geschützt, eintrocknen. Die Essigsäure hatte die Inhaltskörper gelöst und hinterließ beim Austrocknen mehrere aus deutlichen Nadeln gebildete Sphärite, sowie undeutliche Massen, die sich aber auch als doppelbrechend und also krystallinischer Natur erwiesen. Brachte ich nun zu einem kleinen Bröckchen dieser Masse konzentrierte H_2SO_4, so brauste sie nicht mehr auf, löste sich rasch und gab sofort, wegen der größeren Menge, die zum Versuche verwendet wurde, schöne Gipsnadeln. Der Kalk wird also von der Essigsäure aufgenommen und gibt als essigsaurer Kalk die undeutlichen krystallinischen Massen.

Nachdem ich mich so überzeugt hatte, daß jedenfalls Kalk in den Inhaltskörpern vorhanden war, ging ich daran, die restliche Substanz zu bestimmen, an die der Kalk gebunden war. Zwei Möglichkeiten lagen vor. Da das Aufbrausen mit starken Säuren sehr auffallend war und das Gas vom Wasser leicht absorbiert wurde, konnte es sich nur um CO_2 oder H_2S handeln. Am naheliegendsten war natürlich CO_2, da Sulfide oder Polysulfide des Calciums noch nirgends im Pflanzenreich gefunden worden sind, anderseits $CaCO_3$ eine in vielen Pflanzen weitverbreitete Substanz ist. Um dies festzustellen, brachte ich gehörig isolierte und gewaschene Zellen in verschiedene Reagenzien, die mit CO_2 oder H_2S charakteristische Reaktionen geben.

Bringt man die Zellen in Barytwasser (Ätzbaryt), so geben die Inhaltskörper unter langsamer Auflösung einen kleinkörnigen, farblosen Niederschlag, der streng lokal in und um den Zellen auftritt und unter gekreuzten Nikols hell aufleuchtet. Oder es entstehen an Stelle der Inhaltskörper wenige aber große Sphärite, die im polarisierten Lichte hell leuchten und schöne dunkle Kreuze zeigen. Behandelt man diese mit HCl, so brausen sie auf und lösen sich. Dieselbe Erscheinung tritt bei Behandlung mit Kalkwasser ein. Weniger deutlich ist es mit $BaNO_3$, doch kann man immerhin schöne Sphärite erhalten.

Konzentriertes Bleiacetat (Bleizucker) gibt in und an der Zelle einen weißen körnigen Niederschlag, der sich durch die isolierten Körner ebenso leicht erhalten läßt; er ist ebenfalls leicht in Säuren löslich. Ähnlich liegen die Verhältnisse mit $AgNO_3$ oder $ZnSO_4$. Immer entsteht ein in Säuren leicht löslicher weißer Niederschlag.

Am überraschendsten vielleicht ist die Erscheinung, die eintritt, wenn man die Zellen längere Zeit in konzentriertes Sublimat einlegt. Nach

ownload from The Biodiversity Heritage Library·http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

kurzer Zeit beginnen sich in allen Zellen die Inhaltskörper zu lösen und in den meisten entsteht ein prachtvoll gelb bis dunkelroter Niederschlag. Zerdrückte Individuen geben die rote Färbung sofort, und man kann jetzt sehen, wie die rote Färbung ausschließlich an die Inhaltskörper gebunden ist. Der rote Niederschlag sowie die rotgefärbten Körner lassen sich durch einen Wasserstrom langsam auflösen.

Die hier aufgezählten Erscheinungen deuten, glaube ich, zur Genüge an, daß es sich in diesem Falle unmöglich um H_2S handeln kann. Die angewendeten Schwermetallsalze müßten mit irgendwelchen Sulfiden oder Polysulfiden schwarze oder zumindest dunkle Niederschläge geben. So Bleiacetat, $AgNO_3$, $ZnSO_4$ und ebenso $HgCl_2$. Die entstandenen Niederschläge sind aber bis auf die Reaktion mit $HgCl_2$ rein weiß. Es kann also nur $CaCO_3$ vorliegen, denn alle oben genannten Salze geben mit CO_2 in Wasser unlösliche weiße Niederschläge, die sich in Säuren wieder leicht lösen. Der in $HgCl_2$ entstandene rote Niederschlag könnte möglicherweise für rotes Quecksilbersulfid (Zinnober) angesehen werden. Ich muß aber darauf hinweisen, daß durch H_2S immer nur schwarzes Quecksilbersulfid gefällt wird, während das rote Zinnober nur durch Sublimation der schwarzen Modifikation erhalten wird. Der Niederschlag braust auch bei Behandlung mit Säuren nicht auf. Wenn man aber das Vorhandensein eines Karbonates annimmt, so läßt sich der rote Niederschlag zwanglos erklären. Denn aus der Wechselzersetzung von Sublimat und in Lösung befindlichen Karbonaten entsteht nicht Quecksilberkarbonat, sondern rotes Quecksilberoxyd, welches die Inhaltskörper sofort rot färbt. Die Färbung kann auch nur in dem Augenblick eintreten, wo das $CaCO_3$ aus der absterbenden Zelle in Lösung geht, denn nur das gelöste Karbonat bringt die Wirkung hervor. Davon kann man sich makro- und mikroskopisch leicht überzeugen. Lösliche Karbonate (Na_2CO_3, K_2CO_3) geben unter CO_2-Entwicklung den roten Niederschlag, während $CaCO_3$ (krystallisiert) in kürzerer Zeit gar keinen Niederschlag zeigt.

Der Vollständigkeit halber führe ich noch zwei Reaktionen an, die ebenfalls auf das Vorhandensein eines Karbonates hinweisen. Bringt man zu den Organismen verdünntes $CuSO_4$ und H_2O_2, so färben sich die Inhaltskörper bald gelblich und nehmen schließlich eine r o t- b i s d u n k e l b r a u n e

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Farbe an, ohne ihre Form merklich zu verändern. Der Vorgang, der sich makrochemisch genau nachahmen läßt, ist nicht schwer zu erklären. Das $CaCO_3$ tritt wohl zuerst beim Eindringen des $CuSO_4$ in die Zelle mit diesem in Reaktion und gibt $CaSO_4$ und $CuCO_3$. Durch das hinzutretende H_2O_2 wird das Kupfer zu CuO oxydiert, während CO_2 frei wird. Ist letztere in größeren Mengen vorhanden, so wird sie unter Blasenbildung entweichen, wie das in vitro der Fall ist, nicht aber im Präparate, wo ja die freiwerdende Kohlensäuremenge so gering ist, daß sie vom umgebenden Wasser sofort absorbiert wird. Ebenso dürfte auch der Gips sich lösen.

Legt man die Organismen in $FeSO_4$-Lösung ein, so nehmen sie eine braun-grüne Farbe an, welche zuerst in eine braun-gelbe und nach etwa 15 Minuten in eine goldgelbe übergeht; die Körper wurden somit von der $FeSO_4$-Lösung nicht gelöst, sondern blieben darin während dreier Tage erhalten. Schewiakoff hatte diese Veränderung auch schon wahrgenommen (p. 62), ohne aber eine Erklärung dafür geben zu können. Auch diese Reaktion läßt sich zwanglos erklären. Kohlensaure Salze fällen nämlich aus $FeSO_4$ grünes Eisenkarbonat, welches aber wegen seiner Unbeständigkeit sofort in gelbes Eisenoxyd und dann in Eisenhydroxyd übergeht; dieses ist unlöslich und verleiht den Inhaltskörpern eine schön gelbbraune Färbung. Was mit dem nebenbei entstehenden $CaSO_4$ geschieht, kann ich nicht sagen. Entweder bleibt es in den Inhaltskörpern als unlöslicher Bestandteil zurück und entzieht sich der Beobachtung, oder es löst sich in der $FeSO_4$-Lösung vollständig auf.

Nun möchte ich zwei Erscheinungen anführen, die mir nicht ohne weiteres verständlich sind. Behandelt man Achromatien mit starker $CuSO_4$-Lösung, so werden die Inhaltskörper sehr rasch gelöst. Ganz anders fällt der Versuch aus, wenn das $CuSO_4$ sehr langsam von der Seite unter das Deckglas hineindiffundiert. Bei jenen Zellen, die von der Lösung rasch erreicht werden, bemerkt man nichts besonderes, außer daß die Inhaltskörper rasch verschwinden. Wo aber das $CuSO_4$ zu den Zellen nur äußerst langsam vordringt, bleiben die Inhaltskörper zuerst unverändert, nehmen bald einen etwas bläulichen Ton an und lösen sich dann langsam auf. Während dieses Auflösungsprozesses schießen ziemlich rasch oft sehr lange und dünne Krystallnadeln aus den Inhaltskörpern hervor und bilden in der Zelle eine zierliche Druse, die in polarisiertem Lichte lebhaft aufleuchtet. Die einzelnen Nadeln können oft so lang werden, daß sie die Membran nach den verschiedensten Richtungen ausbauchen, ja selbst durchstoßen können (Fig. 10 der Tafel). Sowie aber im Präparat eine lebhaftere Strömung einsetzt, verschwinden diese merkwürdigen Drusen äußerst rasch. Am Naheliegendsten ist es dabei an eine Bildung von Gips zu denken. Ich kann mich nicht so ohne weiteres entschließen, dies zu glauben, schon aus dem Grunde, weil $CaSO_4$ in strömendem Wasser sich nie so rasch löst wie die vorhin geschilderten Drusen. Anderseits ist aber der Gips, wie man sich leicht überzeugen kann, in $CuSO_4$-Lösung viel leichter löslich und so kann dieser Umstand die Ursache des raschen Verschwindens der Drusen sein.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

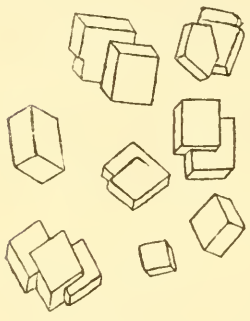
Eine andere mir noch unklare Erscheinung ist die schon von Schewiakoff (p. 64 f.) an Achromatium bemerkte Tatsache, daß wenn man zu einer Probe, die Achromatium, Microspira oder Pseudomonas enthält, einen Tropfen mäßig starken Jodalkohol hinzusetzt, fast augenblicklich die Inhaltskörper gelöst werden, während zur gleichen Zeit außen an der Zelle sich prismatische Nadeln ansetzen, die allmählich die ganze Zelle bedecken oder zu vielverzweigten Bäumchen und Drusen zusammentreten (Fig. 8 der Tafel). Was die chemische Beschaffenheit dieser Krystalle betrifft, so hat die Untersuchung ergeben, daß es sich zweifellos um $CaSO_4$ handelt. Ich kann durchaus nicht den Angaben Schewiakoff's beistimmen, daß die Krystalle in verdünnter HCl, HNO_3 sowie H_2SO_4 leicht und ohne Aufbrausen löslich seien, während sie in starker oder konzentrierter H_2SO_4 unter Aufbrausen nadelförmige Kryställchen von Gips geben. Nach meinem Befund sind die Krystalle in starker H_2SO_4 nur langsam und ohne Blasenbildung löslich, selbst in einem lebhaften Flüssigkeitsstrom. Mit Alkohol allein oder mit Jodwasser gelingt der Versuch nicht. Nimmt man aber Alkohol, dem einige Tropfen H_2SO_4 zugefügt wurde, so kann man, wenn auch langsamer, dieselbe Reaktion hervorbringen. Ganz negativ fällt sie mit Alkohol + HCl aus. Die Bildung des $CaSO_4$ kann also nicht von Säurespuren im Jodalkohol herrühren oder von dem Jod allein. Da ich einen alten Jodalkohol unbekannter Herkunft verwendete, und mit frischem reinen Jodalkohol der Versuch unter keinen Umständen gelingen will, so glaube ich, daß der Jodalkohol möglicherweise mit Schwefelsäurespuren verunreinigt war.

Läßt man eine größere Anzahl gut gereinigter Zellen antrocknen, bedeckt sie sodann mit einem mäßigen Tropfen destillierten Wassers und gibt dann das Ganze in eine feuchte Kammer, um das Austrocknen zu verhindern, so kann man nach einiger Zeit das Verschwinden der Inhaltskörper wahrnehmen. Rings um die Zelle herum, meist in nächster Nähe, oft in und auf der Zelle selbst, treten aber zahlreich kleine farblose Krystalle auf, die die Gestalt eines schiefen Rhomboeders zeigen. Oft sind diese Kryställchen zu ganzen Drusen verwachsen (Textfig. 2). Da die Zellen gut gewaschen wurden und in destilliertem Wasser lagen, so können diese Kryställchen nur aus den Inhaltskörpern hervorgegangen sein. Außerdem muß, da beim Eintrocknen des Wassertropfens mit Ausnahme dieser Krystalle gar kein weiterer Rückstand zurückbleibt, wohl die ganze herausgelöste Masse der Inhaltskörper sich in diese Rhomboeder umgewandelt haben. Diese Krystalle sind in Wasser so gut wie unlöslich, stark licht- und doppelbrechend. Sie sind in HCl, H_2SO_4, Essigsäure und Oxalsäure unter

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

lebhaftem Aufbrausen leicht löslich. Dabei entsteht mit Oxalsäure ein undeutlich körniger Niederschlag von Calciumoxalat sowie mit H_2SO_4 die charakteristischen Gipsnadeln. In wasserfreier Essigsäure (Eisessig) tritt keine schnell sichtbare Veränderung ein, was sich wohl dadurch erklärt, daß der sich bildende essigsaure Kalk in Eisessig unlöslich ist und die Krystalle vor weiterer Auflösung schützt. Ihrem ganzen Verhalten nach bestehen diese Krystalle also ebenfalls aus $CaCO_3$, entstanden durch Umwandlung aus dem in Lösung gegangenen $CaCO_3$ der Zelle.

Aus allen diesen Versuchen können wir mit Sicherheit schließen, daß die großen Inhaltskörper zweifellos aus kohlensaurem Kalk bestehen. Wenn schon dieser Befund ein etwas unerwarteter ist, so ist um so auffallender, daß diese $CaCO_3$-Körner, die doch, wie ich oben gezeigt habe, feste Konsistenz besitzen, nicht doppelbrechend sind. Es kann sich also nur um eine amorphe Modifikation handeln. Wenn es anderseits auch schon seit langem bekannt ist, daß sich amorpher kohlensaurer Kalk künstlich herstellen läßt, so wurde er bis jetzt im Pflanzenreiche und speziell bei den Bakterien noch nicht in fester Form nachgewiesen. Wo er vorkommt, ist er entweder in Form von Inkrustationen oder als Einlagerung beschrieben worden, die aus undeutlich krystallisierten, aber in polarisiertem Lichte hell aufleuchtenden Massen bestehen.



Textfig. 2.

Aus den Inhaltskörpern von Achromatium erhaltene Calcitkrystalle. Vergr. ca. 1000.

Kelly war die erste, die das Vorkommen von amorphem $CaCO_3$ in den Panzern verschiedener Krustaceen und Myriopoden nachzuweisen suchte. Erst die ausgedehnten Untersuchungen Bütschli's (1908) haben die Vermutungen Kelly's bestätigt und uns über die Eigenschaften des kolloidalen oder amorphen $CaCO_3$ etwas aufgeklärt. Der Arbeit von Bütschli entnehmen wir, daß der amorphe kohlensaure Kalk, der sich in reinem, getrocknetem Zustande nur kurze Zeit hält und bald in Calcit übergeht, nur dann haltbar ist, wenn er in einer Eiweislösung gefällt und mit dieser getrocknet wird. Ein solcher «Eiweißkalk» bleibt

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

sehr lange unverändert, was von Interesse ist, da der amorphe $CaCO_3$ in der Tierwelt in Vereinigung mit Chitin relativ haltbar vorkommt. Sein spezifisches Gewicht liegt zwischen 2·25 und 2·45. Beim Erhitzen auf 200° bis 230° C wandelt er sich in die krystalline Modifikation um. Dasselbe geschieht, wenn man den amorphen Kalk in Wasser oder in eine NaCl-Lösung bringt. Die Umwandlung in kleine Rhomboeder oder undeutliche Sphärite setzt sofort ein und ist in kurzer Zeit vollendet. Er ist in Wasser relativ löslich und wandelt sich in konzentrierte Sodalösung oder Pottasche in die charakteristischen Doppelsalze um. «Die Reaktion ist recht bezeichnend für die amorphe Modifikation, da Aragonit und Calcit bei gleicher Behandlung nur wenig und langsam Gaylussit geben, der Aragonit etwas mehr, der Kalzit sehr wenig» (Bütschli, 1908, p. 15). Weiters sagt er: »....eine direkte Umwandlung (des amorphen Kalkes) ....findet nicht statt; vielmehr zeigen meine Beobachtungen an gefälltem und getrocknetem amorphen Kalk ebenso wie am Krebspanzer, daß der amorphe Kalk zunächst stets vom Wasser gelöst und dann erst als Calcit abgeschieden wird« (Bütschli, 1908, p. 17). Eine langsame Umwandlung in Calcit geht sogar in bereits festem Kanadabalsam vor sich.

Diese Resultate stimmen mit meinen Beoachtungen sehr gut überein. Sowie das $CaCO_3$, in dem Eiweiß oder im Crustaceenpanzer wegen der kolloidalen Form der einschließenden Medien nicht krystallisiert vorkommen kann, ebenso steht es auch bei unseren Organismen. Eine ausschlaggebende Bedeutung schreibe ich dem »Häutchen« zu, welches das Calciumkarbonat umhüllt. Wahrscheinlich liegt die Sache sogar so, daß die Kalkkörner von einer kolloidalen eiweißähnlichen Masse durchdrungen sind, welche bei der Auflösung des Kalkes scheinbar als zartes Häutchen zurückbleibt. In ähnlicher Form dürfte ja auch der Schwefel in der Zelle kolloidal erhalten bleiben.

Leider sagt Bütschli gar nichts über das Verhalten gegenüber anderen Reagenzien. Doch dürfte die Sache ganz klar liegen. Sobald die Zelle durch irgendwelche chemische Agentien geschädigt oder abgetötet wird, wird der $CaCO_3$ frei, während die Schnelligkeit des Lösungsvorganges jedenfalls von der zugesetzten Substanz beeinflußt wird. Chemische Wechselzersetzungen dürften nur eine geringe Rolle spielen, da ja manche Chemikalien mit dem $CaCO_3$ nicht in Reaktion treten.

Durch Einlegen in verschiedene Flüssigkeiten konnte festgestellt werden, daß das Lichtbrechungsvermögen dieser Körner bei gewöhnlichem Tageslicht zwischen dem von Zedernöl und Nelkenöl liegt, also bei zirka 1·51—1·54. Die Lichtbrechung ist also ziemlich beträchtlich und weist ebenfalls auf Calciumkarbonat hin.

Andere Inhaltskörper, wie sie schon Hinze (1901) bei Beggiatoa mirabilis gefunden hat, wurden vergeblich gesucht.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

III. Allgemeines.

Wenn wir auf die Ergebnisse dieser Untersuchung zurückblicken, so können wir sagen, daß wir es mit drei Arten zu tun haben, die sich in ganz auffallender Weise von den bis jetzt bekannten Schwefelorganismen unterscheiden. Aus dem bloßen Vorhandensein von Schwefel in den Zellen auf ihre Zugehörigkeit zu den Thiobakterien zu schließen, wie es bis jetzt noch immer geschah, ist nicht ganz exakt. Migula (1900, I. Bd.) sagt: »Man hat die sämtlichen, Schwefelkörner enthaltenden Arten zu einer physiologischen Gruppe der sogenannten Schwefelbakterien zusammengefaßt, ohne Rücksicht auf ihre systematischen Verschiedenheiten.« Wir müssen bedenken, daß es sicher nur für Beggiatoa und Thiotrix (Keil, 1912) nachgewiesen ist, daß sie H_2S und den Schwefel unbedingt zum Leben benötigen.[1] Wenn wir uns also etwas vorsichtiger im Ausdruck fassen, so müssen wir sagen, daß zu der physiologischen Gruppe der Schwefelbakterien nur solche Arten zu rechnen sind, die nicht bloß Schwefel in ihren Zellen enthalten, sondern von denen wir wissen oder zumindest vermuten, daß sie den Schwefelwasserstoff als Energiequelle zum Leben notwendig brauchen. Der Grund dafür, warum wir die überwiegende Zahl der Formen nur vermutungsweise oder nur auf Grund ihrer morphologischen Eigentümlichkeiten zu den Schwefelbakterien rechnen, liegt in den bis jetzt fast unüberwindlichen Schwierigkeiten, die diese Organismen einer Kultur entgegensetzen, so daß ein sicherer Nachweis nicht erbracht werden kann. Wie wir gesehen haben, enthalten sowohl Achromatium als auch Microspira Schwefeltropfen, die sich in keiner Weise von den bei den anderen Schwefelbakterien nachgewiesenen

[1] Hinze (Ber. d. d. bot. Ges., Bd. 21, 1903, p. 394) hat gezeigt, daß in Oscillaria-Arten, die in stark H_2S-haltigem Wasser zu leben vermögen, sich Schwefeltropfen gefunden haben. Es ist nicht wohl anzunehmen, daß sie den H_2S oxydieren, sondern daß dieser durch den Einfluß des Sauerstoffs in den assimilierenden Zellen oxydiert wird, und der Schwefel in der Zelle in Form von Tröpfchen abgelagert wird, ohne für die Algen wahrscheinlich von irgendwelcher Bedeutung zu sein.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

unterscheiden. Morphologisch können wir diese Formen also ohne weiteres zu diesen rechnen. Wie das Vorkommen in der Natur und die aufgestellten Rohkulturen zeigen[1], dürfen wir auch aus dem physiologischen Verhalten (Notwendigkeit von H_2S) auf ihre Schwefelbakteriennatur schließen. Im allgemeinen sind die Formen, soviel ich beobachten konnte, gegen Veränderungen in den Kulturmedien empfindlicher als die übrigen Schwefelorganismen, was besonders bei Pseudomonas hyalina der Fall ist. Dies wird von verschiedenen bis jetzt noch ungeklärten Umständen abhängen, von denen das wahrscheinlich recht hohe Kalkbedürfnis keine geringe Rolle spielen dürfte.

Pseudomonas hyalina nun unterscheidet sich auffallend von den zwei anderen Arten durch den vollständigen und konstanten Mangel an Schwefel. Die Inhaltskörper bestehen bloß aus amorphem $CaCO_3$. Diese Art braucht also entweder sehr wenig H_2S oder, was wahrscheinlicher ist, sie reduziert gerade nur soviel H_2S, daß der gebildete Schwefel sofort zu H_2SO_4 verarbeitet wird. Eine dritte Möglichkeit käme noch in Betracht und zwar, daß sie den Schwefelwasserstoff anders verarbeitet, als es die gewöhnlichen Schwefelbakterien tun. Überhaupt ist ja auch bei Microspira und Achromatium die verhältnismäßig geringe Menge von Schwefel auffallend, die bei ihrer Größe in den Zellen abgelagert wird. Einerseits ist dies verständlich, wenn man bedenkt, daß diese Formen anscheinend ziemlich viel Sauerstoff brauchen, so daß der gebildete Schwefel nicht zu reichlich gespeichert wird und bald verbrannt werden könnte. Anderseits ist es ja möglich, daß sie ebenso wie Pseudomonas den H_2S vielleicht in einer etwas anderen Weise verwerten können. Zu dieser Vermutung gibt auch das ungewöhnliche Vorkommen von $CaCO_3$ Anlaß, dessen Menge bei normalen Zellen sicher 90% der Masse ausmacht. Zweifellos ist es auch kein Zufall, wenn der $CaCO_3$ bei Mangel an

[1] Obwohl im Sommer 1919 zahlreiche Kulturversuche angestellt wurden, gelang doch kein einziger befriedigend. Sobald die bessere Jahreszeit eintritt, werden die Versuche wieder aufgenommen werden.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Schwefelwasserstoff zuerst aus der Zelle verschwindet. Trotz alledem können wir uns über die Rolle, die der kohlensaure Kalk im Stoffwechsel dieser Formen spielt, auch nicht vermutungsweise äußern, und es werden weitere diesbezügliche Untersuchungen hoffentlich mehr Anhaltspunkte liefern.

Schon aus diesen vorläufigen Erörterungen können wir ersehen, daß diese drei Arten einander physiologisch ziemlich nahestehen, und sich durchaus nicht ganz wie die anderen Thiobakterien verhalten. Die in manchen Punkten abweichende Lebensweise, das Vorhandensein von $CaCO_3$ trennt sie morphologisch und biologisch scharf von den übrigen Schwefelorganismen und berechtigt uns, sie zu einer besonderen Gruppe der Schwefelorganismen zusammenzufassen.

Diese Arbeit wurde am pflanzenphysiologischen Institute der Universität Graz ausgeführt. Es sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. K. Linsbauer für die stete Förderung der Arbeit und das rege Interesse, welches er ihr entgegenbrachte, sowie Herrn Lektor Gicklhorn für die zahlreichen Anregungen meinen herzlichsten Dank auch an dieser Stelle auszudrücken.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Achromatium Schewiakoff ist identisch mit Modderula Frenzel und Hillhousia West & Griffiths. Die von den Autoren angeführten Größenunterschiede rechtfertigen noch nicht die Aufstellung mehrerer Arten. Vielleicht können indessen innerhalb der weit verbreiteten Art mehrere Lokalrassen unterschieden werden.

2. Seine Dimensionen schwanken zwischen 9 bis 75 μ in der Länge und 9 bis 25 μ in der Breite. Das Plasma ist gleichmäßig grob, vakuolig gebaut und zeigt keine Differenzierung in eine wabig gebaute Rindenschichte und einen Zentralkörper. Ein Kern ist nicht vorhanden, wohl aber lassen sich kleine chromatin-ähnliche Körnchen im Protoplasma unterscheiden. Die Membran ist ziemlich widerstandsfähig, enthält keine Zellulose und stellt wahrscheinlich eine verfestigte Protoplasmahaut dar. Die Zelle ist von einer Schleimhülle umgeben, die wahrscheinlich von der Zelle durch die Membran ausgeschieden wird. Die Bewegung

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

ist sehr langsam und unregelmäßig. Irgendwelche Bewegungsorgane (Geißeln etc.) fehlen. Die Teilung geht durch eine einfache Durchschnürung der Zelle vor sich.

3. Im Plasma von Achromatium oxaliferum und Microspira vacillans eingebettet finden sich Schwefeltröpfchen, welche die Ecken und Kanten der Waben einnehmen und die mit dem Schwefelwasserstoff-Gehalt des Wassers auftreten und verschwinden.

4. In den Vakuolen liegen größere (2 bis 12 μ) Körner von amorphem kohlensauren Kalk, die von einem dünnen Häutchen (Vakuolenhaut?) umschlossen sind. Ihre physiologische Bedeutung, sowie die Bedingungen ihres Auftretens und Verschwindens sind noch unbekannt.

5. Bei Pseudomonas hyalina bildet kohlensaurer Kalk den einzigen Inhaltskörper. Schwefeltröpfchen konnten bei dieser Form nicht nachgewiesen werden.

6. Alle drei Arten sind an das Vorkommen von Schwefelwasserstoff gebunden, gehören also zu den Schwefelbakterien, von denen sie wahrscheinlich eine besondere Gruppe darstellen.

Literaturverzeichnis.

Die mit * bezeichneten Nummern konnten nicht eingesehen werden.

1. Bütschli, O. Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890.
2. — Über die Einwirkung von konzentrierter Kalilauge und konzentrierten Lösungen von kohlensaurem Kali auf kohlensaurem Kalk etc. Verhandl. d. naturw.-med. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 8, 1906, p. 277—330.
3. — Über Gaylussit und ein zweites Doppelsalz von Calcium- und Natriumcarbonat. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 75, 1907, p. 556—560.
4. — Über die Natur der von Biedermann aus Krebsblut und Krebspanzer erhaltenen Krystalle. Biol. Zentrbl. Bd. 27, 1907, p. 457—466.
5. — Untersuchungen über organische Kalkgebilde etc. Abhandl. d. k. Ges. d. Wissensch. zu Göttingen (N. F.), Bd. 6, 1908—10.
6. * Cohn, F. Beiträge zur Physiologie der Phycochromaceen etc. M. Schultze's Archiv für mikroskopische Anatomie, 3. Bd. 1887.
7. Corsini, A. Über die sogenannten »Schwefelkörnchen«, die man bei der Familie der Beggiatoaceae antrifft. Zentrbl. f. Bakteriologie etc. 2. Abt., Bd. 14, 1905.
8. Frenzel, J. Neue oder wenig bekannte Süßwasserprotisten. Biol. Zentrbl. Bd. 17, 1897, p. 801.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

9. Gicklhorn, J. Über neue farblose Schwefelbakterien. Zentrbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 50. p. 415—427.
10. Hinze, G. Über den Bau der Zellen von Beggiatoa mirabilis Cohn. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 19, 1901, p. 369—374.
11. — Über Schwefeltropfen im Inneren von Oscillarien. Obige Ber. Bd. 21. 1903, p. 394.
12.* Kelly, A. Über Conchit, eine neue Modifikation des kohlensauren Kalkes. Jenenser Zeitschr. d. Nat.-Wissenschaften, Bd. 35, p. 429—494.
13. Keil, F. Beiträge zur Physiologie der farblosen Schwefelbakterien. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. 11, 1912, p. 335.
14. Lauterborn, R. Über Modderula Hartwigi Frenzel. Biol. Zentrbl., Bd. 18, 1898, p. 95.
15.* Massart, J. Recherches sur les organismes inferieurs etc. Recueils de l'Inst. Bot., Univ. de Bruxelles, Bd. 5, 1901, p. 259.
16. Meyer Arthur. Die Zelle der Bakterien. Jena 1912.
17. Melnikoff P. Untersuchung über das Vorkommen des kohlensauren Kalkes in Pflanzen. Inaug.-Diss. Bonn 1877.
18. Migula W. System der Bakterien. 2. Bd. 1897—1900.
19. Molisch H. Neue farblose Schwefelbakterien. Zentrbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 33, 1912, p. 55.
20. — Mikrochemie der Pflanze. Jena 1913.
21. — Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze. Nr. 5: Über den Nachweis von gelösten Kalkverbindungen mit Soda. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 34, 1916, p. 288.
22. — Nr. 6. Über den Nachweis von Kalk mit Kalilauge etc. Dieselben Ber., Bd. 34, 1916, p. 357.
23.* Nadson, G. A. Über Schwefelmikroorganismen des Hapsaler Meerbusens. Bullet. d. jard. imp. bot., St. Pétersbourg, Bd. 13, 1913, p. 106. (Referat Bot. Zentrbl. Bd. 125, p. 642.)
24. Schewiakoff, W. Über einen neuen bakterienähnlichen Organismus des Süßwassers. Verhandl. des med.-naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 5, 1893, p. 44.
25. Virieux, J. Sur l'achromatium oxaliferum Schewiakoff. Comptes Rend. de l'acad. Bd. 154, 1912, p. 717.
26.* Warming, E. Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier. Kiöbenhaven 1876.
27. West G. S. & Griffiths B. M. Hillhousia mirabilis, a Giant Sulphur Bakterium. Proc. of the R. S. London. Serie B. Bd. 81, 1909.
28. — The Lime-Sulphur Bakteria of the Genus Hillhousia. Ann. of Bot., Bd. 27, 1913, p. 83.
29. Winogradsky, S. Über Schwefelbakterien. Bot. Ztg. Bd. 45, 1887.
30. — Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. I. Schwefelbakterien. Leipzig 1888.
31. — Recherches sur les sulfobactéries. Ann. de l'Inst. Pasteur 1889, p. 49.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

Tafelerklärung.

Die Zeichnungen wurden mit Objektiv 5 oder 8 a, Ok. IV, und Zeichenapparat von Reichert angefertigt.

Fig. 1. Achromatium, Habitusbild einer lebenden, noch nicht in Teilung befindlichen Zelle.

Fig. 2 und 3. Teilungsstadien, lebend, bei 3 ist nur mehr ein feiner Verbindungsfaden zwischen den Tochterzellen vorhanden.

Fig. 4. In Tusche liegendes Teilungsstadium, lebend, mit gequollenem Schleimhof, unter welchem eine ganz schmale neue Schleimhülle zum Vorschein kommt.

Fig. 5. Achromatium, mit Formol fixiert, optischer Querschnitt. In den Waben liegen Schwefeltröpfchen.

Fig. 6. Mit Säure behandeltes Achromatium, Aufsicht. Das $CaCO_3$ ist gelöst worden, nur die Schwefeltröpfchen sind geblieben.

Fig. 7. Mit Formol fixiertes Achromatium, optischer Querschnitt; der Protoplast zeigt im Zentrum einen etwas kleinwabigeren Bau.

Fig. 8. Mit Jodalkohol behandelte Zellen zeigen die angeschossenen Nadeln von $CaSO_4$. *a)* Achromatium, *b)* Pseudomonas, *c)* frei in der Lösung gebildete Krystalle.

Fig. 9. Calciumoxalat-Beutel. *a)* Achromatium, *b)* Microspira, *c)* Pseudomonas.

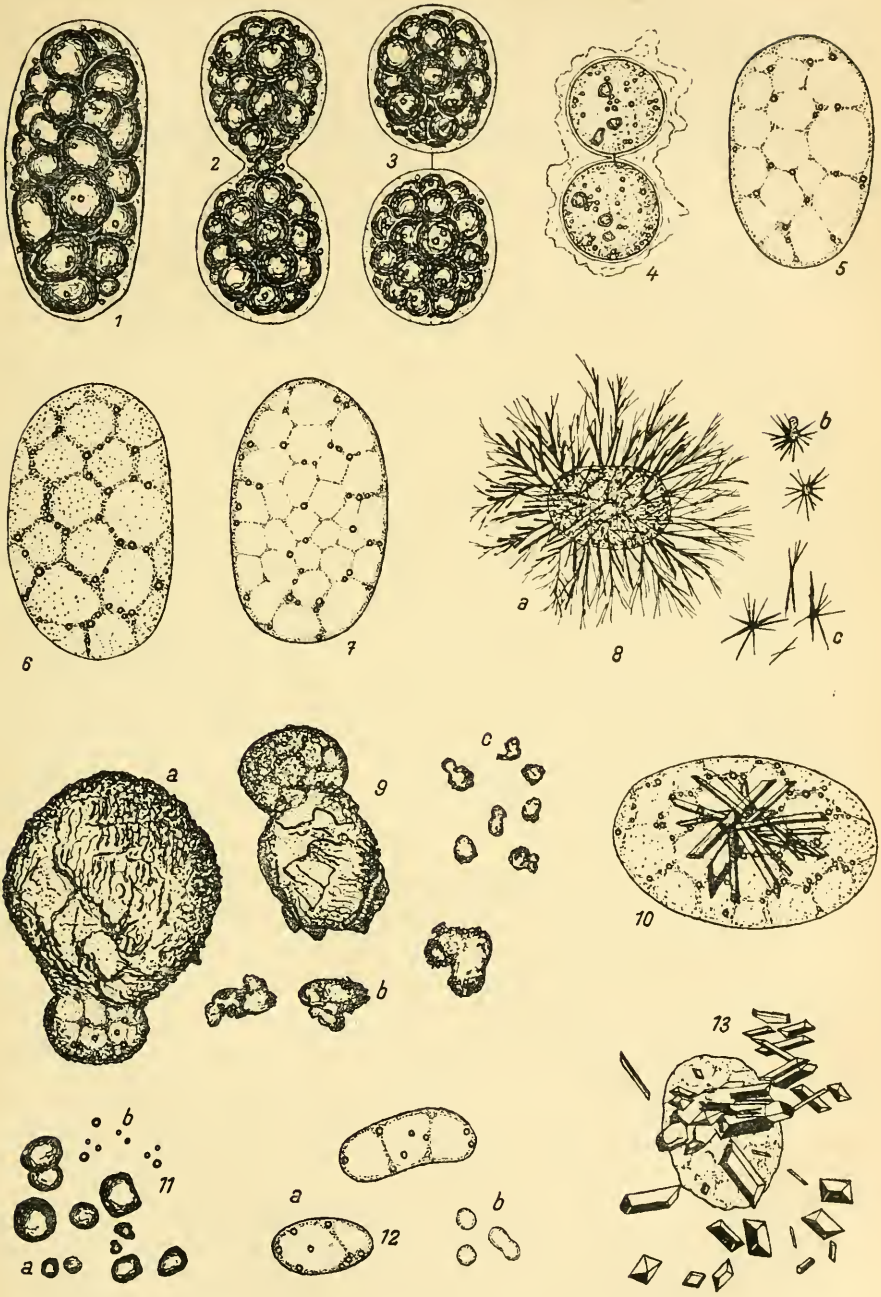
Fig. 10. In einem Achromatium durch $CuSO_4$-Lösung hervorgerufene Krystallbildung.

Fig. 11. Isolierte Inhaltskörper. *a)* Kalkkarbonat, *b)* Schwefel.

Fig. 12. *a)* Microspira mit Säure behandelt, $CaCO_3$ gelöst, der Schwefel ist übrig geblieben. *b)* Pseudomonas ebenso, aber ohne Schwefel.

Fig. 13. Achromatium mit durch Sodalösung hervorgebrachten Gaylussit-Krystallen.

Fig. 4, 8 und 13 bei zirka 400maliger Vergrößerung; die übrigen bei zirka 800maliger Vergrößerung.

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru

ownload from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentru